Ist eine einwandfreie, quantitative Bestimmung der Gallensäuren im Blut möglich, und wie weit kann man aus dem Vorhandensein von Gallensäuren im Blut diagnostische Schlüsse auf die Art einer Lebererkrankung ziehen?

Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde einer hohen medizinischen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

Vorgelegt von

Friedrich-Wilhelm Steinberg

aus Düsseldorf-Benrath.

Druck: H. Krumbiegel Nachf., Düsseldorf

19/32

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dekan: Prof. Dr. Rehn.
Referent: Prof. Dr. med. et phil. Thannhauser.
1932.

Meinen lieben Eltern.

Die Galle hat seit je als ein wichtiges Sekret des Organismus die Aufmerksamkeit der Chemiker und Mediziner auf sich gezogen. Zu Anfang des neunzehnten Jahrhunderts begann man sich besonders für die Chemie zu interessieren. Thenard unterschied 1805 zwei chemisch trennbare Bestandteile. 1826 veröffentlichte Gmelin eine große Arbeit über die Ochsengalle, worin er zweiundzwanzig verschiedene Substanzen unterschied. Zwölf Jahre später gelang es Demarçay das Natriumsalz einer Säure zu isolieren, die er Cholëinsäure nannte. In den folgenden Jahren zerlegte Berzelius diese Säure in die Fellin- und Cholinsäure. Zur selben Zeit und etwas später gelang es Kemp, Theyer und Schlosser die Bleisalze der Gallensäuren oder Cholinsäuren, man hatte noch keinen einheitlichen Namen, darzustellen. Redtenbacher stellte den Gehalt an Schwefel des an Gallensäuren gebundenen Taurins fest. Platner und Verdeil gelang es zuerst, Gallensäuren kristallinisch darzustellen, jedoch glaubten sie, es sei „kristallisierte Galle". Ueber die Darstellung der am häufigsten vorkommenden Gallensäuren, der Cholsäure, gibt uns zum ersten Male Strecker 1848 eine Mitteilung in seiner Arbeit „Untersuchung der Ochsengalle". In seiner zweiten Mitteilung gibt Strecker an, daß Cholsäure oder cholsaures Natrium mit Zuckerlösung und konzentrierter Schwefelsäure eine violett-rote Farbe ergibt. Diesen Versuch machte zuerst Pettenkofer 1844 mit Galle, gibt ihn jedoch als eine neue Reaktion auf Galle an.

Seit der Entdeckung der Gallensäuren sind nun wesentliche Fortschritte erzielt worden. Vor allen Dingen wurde unsere Kenntnis von der Struktur dieser Substanzen in den letzten Jahren sehr bereichert, und zwar besonders durch die Arbeiten von Wieland und Windaus. Diesen Ergebnissen auf den Gebieten der Konstitutionsaufklärung entsprach nicht die Weiterentwicklung unseres Wissens von der Physiologie der Gallensäuren.

Es waren vor allem methodische Schwierigkeiten, die sich der erfolgreichen Bearbeitung dieses Problems entgegenstellten. Zahlreiche Methoden zur quantitativen Bestimmung der Gallensäuren sind in der Literatur angegeben. Die meisten haben der Kritik nicht standhalten können und sind schon wieder verlassen. Auf verschiedenen Wegen hat man versucht, zu einer quantitativen Bestimmung zu kommen. Einmal ging man davon aus, daß die Gallensäuren an stickstoffhaltige Paarlinge, Glykocoll und Taurin, gekuppelt im Organismus vorkommen. Man versuchte durch quantitative Bestimmung der N-haltigen Paarlinge auf die entsprechende Menge Gallensäuren zu schließen. Die gekuppelten Gallensäuren wurden durch Hydrolyse zerlegt. Die N-Komponente wurde mit der gasometrischen Bestimmung des Amino-N nach

van Slyke bestimmt. Foster und Hooper gaben diese Methode zuerst an. Modifikationen sind von Rosenthal und Falkhausen, später von Rosenthal und Lauterbach beschrieben. Einer anderen indirekten Methode zur Bestimmung der Gallensäuren lag das Prinzip zugrunde, die S-haltige Komponente der Gallensäuren zu bestimmen. Derartige S-Bestimmungen in dem alkohollöslichen Teil der Galle wurden von Spiro und Bergmann ausgeführt.

Diese indirekten Methoden haben sich nicht als zuverlässig erwiesen, da auch ungepaarte Gallensäuren im Organismus vorkommen.

Den indirekten Methoden stehen die Methoden der direkten Bestimmung gegenüber. Hoppe-Seyler und Hammersten geben eine gravimetrische Methode an, bei der mit komplizierten Fraktionsverfahren die Gallensäuren zuerst isoliert werden müssen. Thannhauser arbeitete eine titrimetrische Methode zur Bestimmung der Gallensäuren im Kote aus. Bei der Bestimmung größerer Mengen Gallensäuren, wie sie in der Galle vorkommen, bewährte sich die von Jenke ausgearbeitete polarimetrische Methode, die aber für geringe Gallensäurenmengen, wie sie im Blut vorkommen, nicht anwendbar ist. Für geringe Gallensäurenmengen von wenigen Milligramm dürfte sich allein der Nachweis mit der Pettenkofer'schen Probe eignen. Es hat sich gezeigt, daß diese Probe als absolut spezifisch und für den Nachweis kleinster Mengen von Gallensäuren geeignet ist, wenn man bei der Beurteilung der Reaktion nicht rein visuell die Farbe, sondern die von der Reaktionsfarbe gegebenen Absorptionsstreifen berücksichtigt. Wie in einer Arbeit Jenke und Steinberg zeigen konnten, kann die Pettenkofer-Probe erst dann als für Gallensäuren spezifisch angesehen werden, wenn der Nachweis der charakteristischen Absorptionsstreifen gelingt. Dieses Spektrum ist seit den Arbeiten von Bogomoloff und Schenk bekannt. Man findet ein Absorptionsspektrum mit charakteristischen Streifen bei der Linie F und zwischen D und E. Eine Schwierigkeit bei der Anwendung der Pettenkofer'schen Reaktion ist die große Abhängigkeit der Farbenentwicklung von der Art der Versuchsbedingung. Bei Variierung von Zucker- und Schwefelsäuremengen erhält man verschiedene Farbtöne, die zwischen rot, blau und violett variieren. (Modifikation von Gregory und Pascoe).

Pettenkofer beschreibt die Reaktion in seiner Abhandlung „Ueber eine neue Reaktion auf Galle und Zucker": „Wenn ich Ochsengalle, der ich Zucker zugesetzt hatte, mit konzentrierter Schwefelsäure fällte, wobei sich dieses Gemenge bedeutend erwärmte, so nahm die Flüssigkeit eine tief violette Färbung an, ähnlich der des übermangansauren Kalis". Ferner gibt Pettenkofer folgende Bedingungen an: Die Temperatur solle nicht über 50° C sein, die Quantität des Zuckers dürfe nicht zu groß genommen werden, die angewandte Schwefelsäure solle rein und die Flüssigkeit müsse eiweißfrei sein. Diese Reaktion ist oft modifiziert worden. Nach Mylius und Udransky kann man statt Rohrzucker auch Furfurol benutzen. Weitere Methoden zur quantitativen Bestimmung von Gallensäuren sind von Neukomm, Bogomoloff, Straßburg, Drechsel, Jolles, Bang, Herzfeld und Hämmerli, Aldrich und Bledsoe,

Gregory und Pascoe angegeben worden, denen allen die Pettenkofer'sche Reaktion zugrunde liegt.

Ein wichtiger Faktor, der bei der Verwendung der Pettenkofer'schen Probe einer besonderen Aufmerksamkeit bedarf, ist die Einhaltung einer bestimmten Temperatur während der Reaktion. Auch hiervon hängt die Farbe und das von derselben gegebene Absorptionsspektrum ab. Arbeitet man unter konstanten Bedingungen in bezug auf Zucker, Schwefelsäure, Temperatur, so erweist sich die Pettenkofer-Probe als streng spezifisch für Gallensäuren und läßt sich mit Hilfe des Spektrometers zu einer quantitativen Bestimmung von Gallensäuren in kleinen Mengen, wie sie im Blute vorkommen können, verwenden.

Es bot ziemliche Schwierigkeiten, die optimalen Bedingungen der Reaktion festzulegen, um zu einer Reaktionsfarbe zu gelangen, bei der die Absorptionsstreifen deutlich zu beobachten waren. Da die Reaktionsfarbe bei zu großer Erhitzung sich zu schnell verändert, erschien es zweckmäßig, die Probe bei einer Temperatur von 37—40° C anzustellen und das Reaktionsgemisch eine Stunde auf dieser Temperatur im Wasserbad warm zu halten. Die Verwendung von alkoholischer Furfurollösung, wie es Mylius angegeben hatte, bewährte sich nicht, da es sehr wenig haltbar ist. Seine Zersetzungsprodukte geben Farbreaktionen, die der Pettenkofer'schen Probe nicht unähnlich sind.

Wir benutzten daher eine einprozentige wässrige Zuckerlösung, mit der es gelang, ein einwandfreies Spektrum zu erzielen. Auf Grund vieler Vorversuche mit reiner Cholsäurelösung, bei denen wir die Menge der Zuckerlösung und Schwefelsäure variierten, kamen wir zu unserer Standardlösung, die später als Vergleichslösung für unsere Methode zur Bestimmung der Gallensäuren im Blut benutzt wurde, da ihr Gehalt an Gallensäuren bekannt war.

Die nächste Aufgabe war, aus dem Blute Extrakte zu gewinnen, die unter den bei der Herstellung der Standardlösung eingehaltenen Bedingungen ebenfalls für die spektroskopische Vergleichung brauchbare Farben lieferten. Es zeigte sich, daß bei der Anstellung der Pettenkofer-Probe mit dem alkoholischen Extrakt aus Blut in den meisten Fällen eine Farbe zustande kam, die eine erhebliche Endabsorption in der Gegend der für die Pettenkofer'sche Reaktion charakteristischen Absorptionsstreifen hatte. Diese Endabsorption muß auf störende Beimengungen in dem alkoholischen Serumextrakt zurückgeführt werden. Es erwies sich daher als notwendig, eine weitgehende Reinigung der alkoholischen Blutextrakte anzustreben. Wir gelangten schließlich zu folgenden Verfahren:

Das durch Alkoholfällung enteiweißte Serum wird zur Trockne gebracht, der Rückstand wird mit Kalilauge verseift und dann mit Aether ausgeschüttelt, zwecks Entfernung von Cholesterin und den übrigen unverseifbaren Substanzen. Nach Ansäuren mit Salzsäure werden die Gallensäuren extrahiert, damit gehen gleichzeitig die Fettsäuren in den Aether. Dieser wird zur Trockne gebracht. Zur Trennung der Fettsäuren von den Gallensäuren zerrieben wir den Aetherrückstand mit $Ba(OH)_2$ und extrahierten die Gallensäuren mit Alkohol. Der alkoholische Extrakt wird zur Trockne gebracht und zur Anstellung

der Pettenkofer'schen Reaktion benutzt. Das hierbei entstehende Spektrum wird mit Hilfe des Spektrometers (Hellige-Freiburg/Breisgau) ausgewertet. Es lassen sich mit dieser Methode bis zu 0,3 mg Cholsäure in 10 ccm Serum nachweisen.

Trotz der oben beschriebenen Vorbereitung der Blutextrakte war in einigen Fällen aus Gründen, die wir noch nicht übersehen, bei der Ausführung der Pettenkofer'schen Reaktion im Blutextrakt eine Endabsorption zu sehen. Sie ist manchmal so intensiv, daß sie die Beurteilung des Spektrums erschwert, indem sie den Streifen bei F überschattet. Wir hoffen, daß es uns in Zukunft gelingen wird, diesen Mangel zu beseitigen. Zu Versuchen, bei denen wir dem Blutserum bekannte Mengen von Natriumcholat zugesetzt hatten, fanden wir die zugesetzte Cholsäure mit einem Verlust von etwa 10% wieder.

Während es bei Lebergesunden niemals gelang, Gallensäuren nachzuweisen, fanden wir bei Leberkranken Steigerungen bis zu 13 mg%. Diese Steigerungen fanden wir bei Fällen mit mechanischem Ikterus wie auch bei Erkrankungen des Leberparenchyms. Als wesentlich erscheint uns die Tatsache, daß der Anstieg der Gallensäuren im Serum dem Gehalt an Bilirubin nicht zu entsprechen braucht. Am deutlichsten zeigte sich dies in einem Falle von Lebercirrhose mit Ascites (Fall Reiser). Hier betrug der Bilirubingehalt des Serums Direkt 2,5 mg%, Indirekt 3,7mg% (Bestimmung des Bilirubins nach Van den Bergh — Thannhauser), bei 10,3 mg% Gallensäuren. Aber auch das umgekehrte Verhalten konnten wir beobachten. Wir hatten Gelegenheit, eine hyperthrophische Lebercirrhose mit Milzvergrößerung, Ikterus und Ascites zu beobachten. Wir konnten keine Gallensäuren im Blute nachweisen, während die Bilirubinwerte im Serum Direkt 29,0 mg%, Indirekt 22,0 mg% betrugen . (Fall Debatin). Weiter erhielten wir positive Resultete bei Salvarsanikterus (Fall Schatz), Infektion der kleinen Gallenwege (Fall Schelb). In guter Uebereinstimmung zu den Fällen mit mechanischem Ikterus steht unser Versuch am Hunde mit unterbundenen Choledochus. Auch hier wurde eine Vermehrung der Gallensäuren im Blute festgestellt. Bei Fällen von hämolytischem Ikterus war das Resultat negativ.

Auf Grund unseres, bis jetzt noch kleinen Materials kommen wir zu dem Ergebnis, daß jede schwere Lebererkrankung mit Parenchymschädigung erhöhte Gallensäurenwerte im Blute aufweisen kann, aber ebensowenig wie der Ikterus ein absolutes Maß für die Schwere der Erkrankung innerhalb der Leber ist, sind es die Gallensäuren. Bei Lebercirrhosen, für deren Frühdiagnose wir uns aus der Bestimmung der Gallensäuren einen Fortschritt erhofften, zeigte sich ein wechselndes Verhalten.

Das uns zur Verfügung stehende Material dürfte noch zu klein sein, um zu entscheiden, ob mit der Bestimmung der Gallensäuren im Blute ein diagnostischer Fortschritt zur Differenzierung von Leberkranken zu erwarten ist.

Experimenteller Teil.

Vorversuche mit Furfurol.

Zersetztes Furfurol.

5 ccm Schwefelsäure (50%ig) werden mit steigenden Mengen, 1—15 Tropfen einer 1%igen alkoholischen Furfurollösung versetzt. Bei Anwendung von acht Tropfen trat schon in der Kälte eine Rotfärbung ein. Für diese war ein Absorptionsstreifen von 530—550 μμ charakteristisch. Nach der Erwärmung bei 37° C und einer Stunde Dauer zeigten alle Gemische eine Rotfärbung; diejenigen, welche in der Kälte eine Reaktion zeigten, ergaben eine tiefrote Farbe mit einer Endabsorption von 560 μμ.

Bei Anwendung von noch größeren Mengen nicht frischen Furfurols treten im Spektrum Streifen auf, die dem Absorptionssprektrum der Gallensäuren ähneln.

5 ccm Schwefelsäure, 50%ig, werden mit 0,45 ccm einer 10%igen alkoholischen, nicht gereinigten Furfurollösung versetzt. Nach drei Minuten entstand in der Kälte eine tiefrote Farbe mit einem Absorptionsspektrum mit den Streifen von 590—565 μμ und 540—520 μμ, absolut 500 μμ, bei einer Beobachtungsdicke von 30 mm. Nach acht Minuten waren die Streifen nicht mehr trennbar.

Da wir vermuten, daß Zersetzungsprodukte des Furfurols die Ursache für den Ausfall der oben beschriebenen Reaktionen sind, so kontrollierten wir unsere Versuche mit gereinigtem Furfurol.

Versuche mit gereinigtem Furfurol.

Bei Zusatz von reinem Furfurol zu Schwefelsäure gibt es weder in der Kälte noch in der Wärme eine Reaktion. Erst bei Zugabe von Cholsäure entsteht ein für die Gallensäuren charakteristisches Spektrum, jedoch tritt die Reaktion sehr schnell ein. Die starke Zersetzlichkeit von Furfurol ließ uns davon Abstand nehmen, es für die Pettenkofer'sche Reaktion zu verwenden.

Versuch:

0,5 mg Cholsäure in 0,1%iger alkoholischer Lösung werden mit 5 ccm Schwefelsäure, 50%ig, und einer steigenden Reihe von 1—5 Tropfen einer 1%igen alkoholischen Furfurollösung versetzt und eine Stunde bei 37—40° C erhitzt. Nach wenigen Minuten der Erwärmung beginnt sich die Reaktionsfarbe zu entwickeln. Bei der spektroskopischen Beobachtung nach sechzig Minuten fanden wir:

	Reaktionsfarbe	spektroskopisch
1 Tropfen Furfurol	violett — rot	570—590 μμ, abs. 530 Streifen schön getrennt
2 Tropfen Furfurol		570—590 μμ, abs. 540 μμ schlechte Trennung der Streifen
3—5 Tropfen Furfurol	violett	Starke Verbreiterung der Endabsorption.

Eine Stunde nach der Erwärmung hatten sich die Reaktionsfarben nach der violetten Seite hin verändert ohne wesentliche Aenderung des Spektrums. Fünf Stunden später ist eine wesentlich größere Endabsorption zu beobachten. Der Zwischenraum der Streifen ist nachgedunkelt. Der Streifen 570—590 μμ hat sich bis auf 610 μμ verbreitert. Die spektroskopische Beobachtung der Reaktion kann nur in der ersten Stunde nach dem Erwärmen durchgeführt werden wegen der Veränderlichkeit des Absorptionsstreifens.

Um die Pettenkofer'sche Reaktion nach der Richtung auszuwerten, wieviel Cholsäure noch nachgewiesen werden kann, brauchten wir folgende Anordnung:

0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 mg Cholsäure werden mit je 5 ccm Schwefelsäure, 50%ig, und einem Tropfen Furfurol versetzt und eine Stunde bei 37—40° C erwärmt. Nach zehn Minuten wird eine leichte Rosafärbung erkannt, steigend von 0,1—0,5 mg Cholsäure. Ein Spektrum wird noch nicht gesehen. Nach dreißig Minuten ist die Verfärbung stärker mit einer beginnenden Endabsorption. Von 0,3 mg Cholsäure an wird der Streifen 570—590 μμ eben erkannt. Nach sechzig Minuten sieht die Reihe rot — violett aus. Wir fanden folgende Werte:

Cholsäure-mengen	10 Minuten Reaktionsfarbe	10 Minuten spektroskopisch	30 Minuten Reaktionsfarbe	30 Minuten spektroskopisch	60 Minuten Reaktionsfarbe	60 Minuten spektroskopisch
0,1 mg			rosa	abs. 520 μμ	rot-rosa	abs. 520 μμ
0,2 mg				abs. 520 μμ	mit Stich ins Violette	abs. 525 μμ
0,3 mg				abs. 520 μμ 570-90 μμ eben erkennbar	dasselbe	570-90 μμ, abs. 525 μμ
0,4 mg				dasselbe	violett	dasselbe
0,5 mg	leicht rosa		rosa-rot	dasselbe abs. 530 μμ	violett	570-90 μμ abs. 530 μμ

Fünf Stunden nach der Erwärmung sind alle Farben nach violett nachgedunkelt. Die spektroskopische Ablesung ist durch die Unschärfe des Spektrums erschwert. Vierundzwanzig Stunden später sind die Farben violett mit unscharfen Streifen im Spektrum. Nach Tagen sehen die Farben bläulich aus.

Versuche mit Rohrzucker.

Wegen der Zersetzlichkeit von Furfurol verwandten wir weiterhin eine 1%ige Rohrzuckerlösung. Größere Zuckermengen geben mit Schwefelsäure eine stärkere Gelbfärbung. Man darf höchstens 1—2 Tropfen einer einprozentigen Rohrzuckerlösung verwenden, wobei eine

eben angedeutete Gelbfärbung mit einer geringen Endabsorption auftritt, die die Absorptionsstreifen der Pettenkofer'schen Reaktion nicht stören.

Aufstellung der Standardlösung.

0,5 ccm einer 0,1%igen alkoholischen Cholsäurelösung werden zur Trockne gebracht. Der Rückstand wird mit 5 ccm Schwefelsäure, 50%ig, und zwei Tropfen einer 1%igen wässrigen Rohrzuckerlösung versetzt und eine Stunde auf 37—40° erwärmt, darauf abgekühlt. Die Lösung wird zum Vergleich im Spektrometer benutzt. Wir gebrauchten hierzu das Spektrometer nach Angaben von Dr. Weiss.

Der Apparat entwirft zwei gleichartige Spektren, die ohne scharfe Grenzen ineinander übergehen. Wenn auf der einen Seite die Standardlösung mit bekanntem Gehalt von 0,5 mg Cholsäure, auf der anderen Seite die Versuchslösung kommt, können wir durch Einstellung gleichbreiter Absorptionsbanden den Gehalt der Versuchslösung an Cholsäure nach dem Beer'schen Gesetz berechnen.

Mit Hilfe der obigen Standardlösung gelang es uns, 0,3 mg Cholsäure spektroskopisch einwandfrei nachzuweisen oder auf den Gallensäurengehalt im Blute bezogen gestattet die Methode bei Verwendung von 10 ccm Serum einen Gallensäurengehalt von 3 mg % nachzuweisen.

Die von uns angewandte Methode gestaltete sich schließlich folgendermaßen:

10 ccm Serum werden mit 90 ccm heißem Alkohol aufgenommen. Wir verwandten mit Methanol denaturierten Alkohol. Zu warnen ist vor einem Denaturierungsmittel wie Kampfer*) Die Eiweißfällung wird heiß in einen Erlenmeyer-Kolben abfiltriert und mit 50 ccm heißem Alkohol nachgespült. Unter zweimaligem Filterwechsel wird der Eiweißrückstand mit je 50 ccm heißem Alkohol nachgewaschen. Die Flüssigkeit wird auf einer elektrischen Heizplatte eingeengt und auf einem Wasserbade zur Trockne gebracht. Der Rückstand wird mit 20 ccm 15%iger KOH zwölf Stunden am Rückflußkühler verseift. Nach der Verseifung führt man die Flüssigkeit quantitativ in einen Schütteltrichter über. Dreimal wird mit ungefähr 50 ccm Aether ausgeschüttelt. Die gesammelten Aetherextrakte werden mit Wasser ausgeschüttelt bis die wässrige Schicht keine alkalische Reaktion mehr zeigt. Das Waschwasser wird mit der wässrigen Flüssigkeit vereinigt. Dann wird die Lösung mit Salzsäure, etwa 25%ig, bis zur kongosauren Reaktion angesäuert und mit Aether dreimal extrahiert. Der gesammelte Aether wird zur Trockne gebracht. Nach Zugabe von einer Messerspitze fein gepulvertem $Ba(OH)_2$ wird das Gemenge mit 10 ccm heißem Alkohol zerrieben und heiß filtriert, unter mehrfachem Nachspülen, so daß keine Verluste entstehen. Das alkoholische Filtrat wird eingeengt und zur Trockne gebracht.

Dieser Rückstand wird zur Anstellung der Pettenkofer-Proben verwandt. Er wird mit 3 ccm Schwefeläure, 50%ig, aufgenommen

*) Mit Kampfer denaturierter Alkohol gab Anlaß zu Fehlern, weil Kampfer mit Zucker und Schwefelsäure eine der Pettenkofer-Probe ähnelnde Reaktion gab mit einer absoluten Endabsorption von 520 μμ, wie wjr nachweisen konnten.

und unter Nachspülen mit zweimal je 1 ccm Schwefelsäure quantitativ in ein Reagenzglas überführt. Nach Zugabe von zwei Tropfen einer 1%igen wässrigen Rohrzuckerlösung wird eine Stunde bei 37—40° C im Wasserbad erwärmt. Nach Abkühlen wird die trübe Lösung zwanzig Minuten zentrifugiert. Darauf wird mit einer Standardlösung, deren Herstellung bereits beschrieben wurde, mit dem Spektrometer verglichen.

Untersuchung eines Serums eines Nicht-Leberkranken.

Patient G. Diagnose: chronisches Emphysem mit leichter Hypertonie.

Rest — N = 23 mg%. Harnsäure = 5,6 mg%, Kochsalz = 600 mg%

10 ccm Serum werden aufgearbeitet. Bei der Aufnahme des Alkoholrückstandes mit Schwefelsäure entsteht eine leichte braune Farbe. Nach einer Stunde Erwärmung, Abkühlen und Zentrifugieren sieht die Lösung gelblich aus. Im Spektrum ist nur eine End-Absorption zu erkennen.

Zusatzversuche von 1,0 mg Natriumcholat zu 10 ccm Serum Nicht-Leberkranker.

Wir geben aus einer großen Reihe von Zusatzversuchen nur einige Beispiele an.

Versuch:

Die abgekühlte und zentrifugierte Lösung sieht purpur-violett aus mit einem feinen Stich ins Braune. Die Auswertung mit einer Standardlösung von 0,5 mg Cholsäure ergibt:

$$\frac{0{,}5 \times 25}{11{,}6} = 1{,}08; \quad \frac{0{,}5 \times 30}{14{,}6} = 1{,}03; \quad \frac{0{,}5 \times 35}{16{,}8} = 1{,}04; \quad \frac{0{,}5 \times 40}{19{,}4} = 1{,}03.$$

Als Durchschnittswert 4,18 : 4 = 1,045 mg Cholsäure.

Versuch:

Die Farbe der zentrifugierten Versuchslösung ist violett mit braunem Unterton. Auswertung:

$$\frac{0{,}5 \times 25}{13} = 0{,}96; \quad \frac{0{,}5 \times 30}{15{,}6} = 0{,}96; \quad \frac{0{,}5 \times 35}{18{,}5} = 0{,}95; \quad \frac{0{,}5 \times 40}{20{,}8} = 0{,}96.$$

Wir fanden bei einem Zusatz von 1 mg 0,96 mg Cholsäure zurück.

Versuch:

Farbe der Lösung purpur mit leichtem braun.

Auswertung:

$$\frac{0{,}5 \times 20}{13} = 0{,}77; \quad \frac{0{,}5 \times 25}{14{,}3} = 0{,}88; \quad \frac{0{,}5 \times 30}{17{,}1} = 0{,}88;$$

Verlust von 0,15 mg Natriumcholat.

Versuch:

Farbe der Versuchslösung rot mit leichtem Uebergang ins braune. Starke Endabsorption. Auswertung:

$$\frac{0{,}5 \times 20}{11{,}2} = 0{,}89; \quad \frac{0{,}5 \times 25}{12} = 1{,}04; \quad \frac{0{,}5 \times 30}{15{,}1} = 0{,}89;$$

$$\frac{0{,}5 \times 35}{18} = 0{,}97; \quad \frac{0{,}5 \times 40}{20{,}4} = 0{,}98.$$

Durchschnittswert: 0,97 mg Cholsäure.

Fälle mit mechanischem Ikterus.

Name T. Diagnose: kompletter Ikterus nach Gallenblasenoperation. 1923 Gallenblasenoperation wegen Steinblase? Seit der Operation Ikterus. Bei Einlieferung in die Klinik 1931 bestand stärkste Gelbsucht. Fette Speisen werden nicht vertragen.

Haut schmutzig grau, Ernährungszustand herabgesetzt. Mäßige Druckempfindlichkeit in der Gegend unter der Leber. Leber und Milz nicht vergrößert.

Keine Bradykady.

Im Urin: Urobilinogen negativ. Bilirubin stark positiv.

Im Blut:

Bilirubin: Direkt 20,1 mg%,
Indirekt 9,2 mg%.

Gallensäuren: in 10 ccm Serum 8,3 mg%.

$$\frac{0{,}5 \times 30}{18{,}1} = 0{,}83.$$

Name: Fehrenbach. Diagnose: Leber-Ca.

Primär-Tumor, wahrscheinlich in den Gallenwegen. Röntgenuntersuchung wegen schlechten Allgemeinzustandes nicht möglich. Hochgradiger Ikterus mit Temperatursteigerungen bis 39° C. (Josefshaus).

Im Blut:

Cholesterin	= 157 mg%.	
Cholesterinester	= 152 mg%.	
Bilirubin	= 11,1 mg% Direkt,	
	6,9 mg% Indirekt.	
Gallensäuren	= 12,0 mg%.	Reaktionsfarbe: Kirschrot.

$$\frac{0{,}5 \times 22}{9{,}2} = 1{,}2$$

Name: Hähringer. Diagnose: Leber-Ca. Seit drei Monaten wird Hähringer gelber. Urin wird dunkler, Stuhl lehmfarbig. In den letzten Monaten vierzig Pfund abgenommen. Haut ikterisch. Oedeme an den Knöcheln. Ascites. Der Nabel ist verstrichen. Druckempfindlichkeit im Oberbauch. Von der Leber nicht abgrenzbare Resistenz in Nabelhöhe zu tasten. Der untere Milzpol ist palpabel.

Subfebrile Temperatur, keine Bradykady.

Urin: Urobilin und Urobilinogen: schwach positiv. Bilirubin stark positiv.

Stuhl: Fett und Blut positiv.

Blutbild: Hb. = 45%.
rote Blutkörperchen = 2,8 Millionen
weiße Blutkörperchen = 2 800.

Blut: Cholesterin = 168 mg%,
Cholesterinester = 58 mg%,
Bilirubin = 11,1 mg%, Direkt.
4,5 mg% Indirekt.

Gallensäuren am 24. März und 20. April negativ.

Mechanischer Ikterus beim Hunde durch Choledochus-Unterbindung.

Am 8. Juni 1931 Operation.

Am 9. Juni 1931: Skleren weiß, Urin: ohne Befund.

Am 10. Juni 1931: Skleren weiß, Urin: o. B.

Am 11. Juni 1931: Skleren weiß, Urin: Bilirubin positiv.

Das aus der Jugularis entnommene Blutserum ist stark hämolytisch. Die angestellte Pettenkofer-Probe fällt negativ aus. Die Farbe ist braun.

Am 12. Juni 1931: Skleren sind subikterisch, im Urin: Urobilinogen, in der Kälte und Wärme negativ. Bilirubin stark positiv. In leichter Aethernarkose werden 80 ccm Blut entnommen, dessen Serum stark hämolytisch ist.

Im Blut: Bilirubin Direkt = 4,8 mg%
Indirekt = 5,6 mg%.
Gallensäuren = 8,3 mg%.

Berechnung:

$$\frac{0{,}5 \times 30}{17} = 0{,}88; \quad \frac{0{,}5 \times 35}{21{,}3} = 0{,}82; \quad \frac{0{,}5 \times 40}{25{,}2} = 0{,}79.$$

Versuche mit Fällen von Lebercirrhosen.

Name: Debatin. Diagnose: Lebercirrhose. Seit einem halben Jahr Gelbfärbung der Haut mit starkem Juckreiz. Schmerzen in der Lebergegend. Das Essen bleibt ohne Einfluß auf seine Beschwerden. Fettstühle. Der Urin ist rotbraun.

Haut grünlich-gelb verfärbt. Leib stark aufgetrieben, Nabel verstrichen. Milz palpabel. Die Leber ist derb und vier Querfinger unter dem Rippenbogen fühlbar. Ascites. Subfebrile Temperatur. Keine Bradykady.

Im Urin: Urobilinogen negativ, Bilirubin positiv.

Stuhl: Fettkugeln.

Das Blutbild zeigt eine leichte Anämie.

Der Magensaft ist kongosauer, Bilirubin negativ.

Im Blut:

Am 27. März: Cholesterin = 145 mg%,
Cholesterinester = 69 mg%,
Bilirubin Direkt = 29 mg%
Indirekt = 22 mg%.
Gallensäuren negativ, die Farbe ist gelb ohne Spektrum.

Am 23. April 1931:

Cholesterin 107 mg%
Cholesterinester: 90,5 mg%
Bilirubin Direkt: 25,2 mg%
Indirekt: 13 mg%.
Gallensäuren negativ, die Farbe ist braun mit leichtem Ton ins Violette; spektroskopisch wird eine Endabsorption ge-

sehen, also muß der Gallensäurengehalt weniger als 3 mg% betragen.

Name: Futter. Diagnose: Lebercirrhose, Typ Hannot. Am 9. Juli 1931: Seit vier Jahren leidet F. an Schwindelanfällen, die sich in der letzten Zeit verschlimmerten. Seit kurzem leichte gelbe Verfärbung der Haut. Kein Alkoholmißbrauch.

Der Leib ist aufgetrieben, die Milz vergrößert und palpabel. Die Leber ist eine Handbreit unter dem Rippenbogen tastbar mit harter Konsistenz und glatter Oberfläche.

Im Urin: Urobilinogen und Bilirubin positiv. Stuhl ohne Befund.

Im Blut: Bilirubin Direkt = 7,4 mg%,
Indirekt = 5,5 mg%.
Gallensäuren = 5 mg%, Berechnung:

$$\frac{0{,}5 \times 20}{20{,}2} = 0{,}49; \quad \frac{0{,}5 \times 25}{26{,}3} = 0{,}47; \quad \frac{0{,}5 \times 30}{27{,}8} = 0{,}54;$$

$$\frac{0{,}5 \times 35}{34{,}4} = 0{,}51.$$

Name: Reiser. Krankenhaus Konstanz. Diagnose: Lebercirrhose. R. hat eine Gelbsucht mit Ascites.

Beeits im November 1930 fiel seiner Umgebung sein schlechtes Aussehen auf. Seit Mitte Juni 1931 wird der Leib aufgetriebener, er hat geschwollene Füße. Alkoholmißbrauch wird zugegeben.

Im Blut: Bilirubin Direkt = 2,5 mg%
Indirekt = 3,7 mg%,
Cholesterin = 250 mg%,
Cholesterinester = 30 mg%,
Gallensäuren = 10,3 mg%. Farbe der Lösung purpurbraun mit gut ablesbarem Spektrum.

Berechnung:

$$\frac{0{,}5 \times 20}{9{,}5} = 1{,}05; \quad \frac{0{,}5 \times 25}{12{,}1} = 1{,}03; \quad \frac{0{,}5 \times 30}{15{,}1} = 0{,}99;$$

$$\frac{0{,}5 \times 35}{17} = 1{,}03; \quad \frac{0{,}5 \times 40}{18{,}8} = 1{,}06.$$

Name: Härig. Diagnose: Lebercirrhose.

Seit längerer Zeit Verdauungsbeschwerden. Fünf bis achtmal täglich Stuhl, manchmal mit grauer Farbe. Schmerzen in der Brust und in der Gallenblasengegend. Alkoholmißbrauch wird zugegeben.

Leib aufgetrieben. Umschriebene Druckempfindlichkeit unter dem rechten Rippenbogen. Milz tastbar. Leber handbreit unter dem Rippenbogen palpabel. Skleren subikterisch. 80 Pulsschläge in der Minute.

Blutbild: leichte Anämie.

Im Urin: Urobilinogen in der Kälte negativ, in der Wärme positiv. Saccharum positiv.

Im Blut: Bilirubin Direkt = 6,2 mg%
Indirekt = 4,1 mg%.

Blutzuckerkurve: Nüchtern = 117 mg%,
nach 30 Minuten = 251 mg%,
nach 60 Minuten = 308 mg%,
nach 90 Minuten = 341 mg%,
nach 120 Minuten = 316 mg%,
nach 180 Minuten = 169 mg%.

Gallensäuren: 3,9 mg%. Berechnung: $\frac{0,5 \times 20}{26} = 0,38$; $\frac{0,5 \times 25}{31,2} = 0,4$;

$\frac{0,5 \times 30}{37,8} = 0,39$; $\frac{0,5 \times 35}{42} = 0,41$.

Name: Ehret. Diagnose: Lebercirrhose.

1924 macht E. eine Gelbsucht durch. Seit dieser Zeit wiederholte sich dieser Zustand öfters ohne Beschwerden, mit einer Dauer von drei bis vier Tagen. In den letzten Wochen fühlt er sich matt und klagt über Juckreiz. Der Stuhl war nie entfärbt, öfters Durchfälle.

Skleren und Hautfarbe ikterisch. Der Leib ist stark aufgetrieben mit einer Venenzeichnung. Ascites. Leber und Milz wegen des aufgetriebenen Leibes nicht tastbar. Die Milz ist perkutorisch vergrößert. Im Blut:

Cholesterin ..... 81 mg%,
Cholesterinester ..... 15 mg%,
Bilirubin Direkt ..... 39,0 mg%,
Indirekt ..... 27,7 mg%.

Blutzuckerkurve leicht erhöht.

Gallensäuren: 4,3 mg%. Berechnung: starke Endabsorption, jedoch ist das Spektrum noch zu erkennen.

$\frac{0,5 \times 20}{23} = 0,44$; $\frac{0,5 \times 25}{30} = 0,41$; $\frac{0,5 \times 30}{34} = 0,44$; $\frac{0,5 \times 35}{39,5} = 0,44$

Versuche bei Fällen von Lebererkrankungen anderen Ursprungs.

Name: Schatz. Krankenhaus Konstanz. Diagnose: Salvarsan-Ikterus.

Am 15. Mai 1931 erkrankte Sch. plötzlich an Ikterus, nachdem er vorher eine Salvarsankur von 3,0 g Neo-Salvarsan ohne Reaktion vertragen hatte. Bei der Aufnahme am 22. Mai 1931 bestand eine Gelbsucht; die Leber war nicht vergrößert und nicht druckempfindlich. Nach Behandlung mit Insulin trat eine deutliche Besserung ein. Im Urin:

Urobilinogen, Bilirubin, Indikan: positiv.
Eiweiß: Spur.
Zucker: negativ.

Nach der Behandlung mit Insulin im Urin:
Bilirubin: negativ; Urobilinogen: Spur.

Im Blut: Gallensäuren 8,4 mg%. Berechnung:

$\frac{0,5 \times 30}{18,2} = 0,82$; $\frac{20 \times 0,5}{12} = 0,83$; $\frac{0,5 \times 25}{16} = 0,78$; $\frac{0,5 \times 35}{19} = 0,92$.

Name: Schelb. Diagnose: Infektion der kleinen Gallenwege.

Vor fünf Jahren wurde eine Gelbsucht mit starken Schmerzen festgestellt, die nach dem rechten Arme ausstrahlten. Seit einiger Zeit treten wieder Beschwerden auf, die von Gelbsucht, Hautjucken und leichtem Fieber begleitet sind. Im Stuhl: Fettkugeln nachweisbar.

Im Blut:

Cholesterin . . . . . 82 mg%,
Cholesterinester . . . 143 mg%,
Bilirubin Direkt . . 13,2 mg%,
Indirekt . . . . 5,8 mg%.
Blutzucker: nüchtern 100 mg%.
Gallensäuren: 13,3 mg%. Die Reaktionsfarbe sieht rotbraun aus.

Berechnung: $\frac{0{,}5 \times 25}{8} = 1{,}56$; $\frac{0{,}5 \times 30}{12} = 1{,}25$;

$\frac{0{,}5 \times 35}{14} = 1{,}25$; $\frac{0{,}5 \times 40}{16.} = 1{,}25.$

Name: Fuchs. Diagnose: Stauungsleber bei Herzinsuffizienz.

Hochgradiger Lebertumor. Kein Ikterus. Mäßige Herzvergrößerung. (Josefshaus).

Im Blut: Bilirubin Direkt: 1,2 mg%,
Indirekt: 0,6 mg%.
Gallensäuren: negativ. Die Farbe der Versuchslösung sieht braun aus.

Name: Henninger. Diagnose: Stauungsleber bei Herzinsuffizienz. (Krankenhaus Lahr).

Im Blut: Bilirubin Direkt: 0,9 mg%
Indirekt: 0,2 mg%.
Gallensäuren: negativ. Farbe: braun mit feinem Stich ins rote.

Name: Kaiser. Diagnose: Eitrige Gallenblasenentzündung mit Abzessbildung in der Leber (Sektionsbefund).

Im Blut: Blutzucker: 978 mg%,
Bilirubin Direkt . . . 4,1 mg%,
Indirekt . . . . 2,3 mg%.
Lipase im Blut . . . 5 Tropfen.
Rest — N . . . . . 189 mg%,
Kochsalz . . . . . 620 mg%,
Harnsäure . . . . . 8,7 mg%.
Cholesterin . . . . . 189 mg%,
Cholesterinester . . . — —

Die Gallensäuren sind negativ, ihre Reaktionsfarbe ist braunrot mit starker Endabsorption.

Fälle mit hämolytischem Ikterus.

Name: Baldischyler.

1929 Schmerzen in der Milzgegend mit Gelenkbeschwerden. Weingenuß: täglich etwa 1 l. Seinem Bruder wurde die Milz entfernt. Tot mit 30 Jahren.

Haut subikterisch. Der untere Milzboden ist zwei Querfinger unter

dem Nabel palpabel, ebenfalls die Leber drei Querfinger unter dem Rippenbogen.

Im Urin: Urobilinogen und Bilirubin negativ.

Blutbefund: Hb 50%. Rote Blutkörperchen: 3,74 Millionen, Weiße Blutkörperchen: 6 600.

Beginnende Hämolyse der roten Blutkörperchen bei 0,52% Nacl, vollständige Hämolyse bei 0,40% Nacl.

Im Blut: Cholestrin . . . . . 37 mg%,
Choleserinester. . . . 75 mg%,
Bilirubin Direkt . . . 1,7 mg%,
Indirekt: . . . . 1,1 mg%.
Gallensäuren: negativ.

Name: Spek. 1929 längere Zeit gelb gewesen. Seit kurzem (1931) wird Sp. wieder stärker gelb, ohne richtige Schmerzen zu haben. Haut ikterisch verfärbt. Umschriebene Druckempfindlichkeit unter der Leber, die Milz ist eben tastbar.

Röntgenbefund: Milz zeigt auffällige Körnelung und Verdichtung des Schattens.

Blutbefund: Die Resistenz der roten Blutkörperchen ist herabgesetzt

Im Blut: Bilirubin Direkt . . . 6,0 mg%,
Indirekt: 5,9 mg%.
Gallensäuren: negativ.

Herrn Professor Dr. med. et phil. S. J. Thannhauser bin ich stets zu sehr großem Danke verpflichtet für die Ueberlassung eines Arbeitsplatzes in seinem chemischen Laboratorium und für sein jederzeit verständnisvolles, bereitwilliges Entgegenkommen.

Literatur:

Aldrich und Bledsoe: Journ. of biol. chem. 1928. Bd. 77, S. 519.
Berzelius: Liebig-Ann. Bd. 43, Seite 1.
Bogomoloff: Zentralbl. für die med. Wissensch. 1869, Bd. 7, S. 486.
Bang: Lehrbuch d. Harnanalyse, Wiesbaden 1908.
Demarçay: Liebig-Ann. Bd. 27, S. 270.
Drechsel: Journ. f. prakt. Chem. Band 24, S. 44.
Foster und Hooper: Journ. of biol. chem. 1919, Bd. 38, S. 355.
Gregory und Pascoe: Journ. of biol. chem. 1929, Bd. 83, S. 35.
Hammersten: (Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem. 1901, Bd. 32, S. 439.)
Abderhaldens Handb. f. biochem. Arbeitsmeth. 1922, Abt. I, Teil 6, S. 211.
Hoppe-Seyler: Handb. d. chem. Analyse.
Herzfeld und Hämmerli: Schweiz. med. Wochenschr. 1924, S. 141; 1925, S. 142 und 164.
Jenke: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1928, Bd. 130, S. 288.
Jenke-Steinberg: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1930, Bd. 153, S. 244.
Jolles: Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiol. Chemie, 1908, Bd. 57, S. 30.
Kemp: Journ. f. prakt. Chem. Bd. 28, S. 184.
Mylius: Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem. 1887, Bd. 11, S. 492.
Neukomm: Vierteljahrsschrift d. naturforsch. Ges. Zürich 1860, S. 116.
Plattner: Liebig-Ann. 1844, Bd. 51, S. 105.
Pettenkofer: Liebig-Ann. 1844, Bd. 52, S. 390.
Redtenbacher: Liebig-Ann. Bd. 57, S. 170.
Rosenthal und Falkenhausen: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1923, Bd. 98, S, 321.
Rosenthal und Lauterbach: ebenda, 1924, Bd. 101, S. 1.
Spiro: Arch. f. d. ges. Physiol. 1880, Suppl. Bd. 50. Bergmann: Hofmeisters Beitr. 1904, Bd. 4, S. 192.
Schenk: Anat. physiol. Untersuchungen, Wien 1872. Im Referat in Malys Jahresberichten über die Fortschritte d. Tierchemie. Bd. 2, S. 232.
Strecker: Liebig-Ann. Bd. 65, S. 1; Bd. 67, S. 1.
Straßburg: Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. 4, S. 461.
Theyer u. Schlosser: Liebig-Ann. Bd. 48, S. 77 und Bd. 50, S. 235.
Thannhauser: Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1921, Bd. 137, S. 178.
ebenda 1923, Bd. 141, S. 303.
Udransky: Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem. 1887, Bd. 12, S. 355.
Verdeil: Liebig-Ann. Bd. 59, S. 311.
Wieland: Meyer-Jakobsen: Lehrb. d. org. Chem. 1924, Bd. 2, Teil 4, S. 247.
Weiss: Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1930, Bd. 166, S. 331.

Lebenslauf.

Friedrich-Wilhelm Steinberg wurde am 20. 9. 1904 in Düsseldorf-Benrath als Sohn der Eheleute Paul Steinberg und seiner Frau Henriette geb. Cahn geboren. Er besuchte die Bürgerschule und das dortige Realgymnasium. Nach Beendigung seiner Schulzeit widmete er sich zuerst einer praktischen Tätigkeit und studierte auf der Technischen Hochschule zu München. — Während seiner medizinischen Studien weilte er in Freiburg, Kiel, Düsseldorf, Freiburg. Das Vorexamen bestand er 1928 in Kiel, das Staatsexamen im Sommer 1932 in Freiburg i. Br. — Seine Praktikantenzeit absolvierte er an den medizinischen Kliniken zu Freiburg, Düsseldorf und Köln.

Jetzt befindet sich F. W. Steinberg in San Antonio Tex. U. S. A. als Assistentsarzt.